

БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ	
И-Т ПО ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА МОРФОЛОГИЯ, ПАТОЛОГИЯ И АНТРОПОЛОГИЯ С МУЗЕЙ	
Вх. №	64
.....	04.03
.....	2021 г.
СОФИЯ	

РЕЦЕНЗИЯ

От проф.д-р Ренета Тошкова, доктор, секция “Патология”, при ИЕМПАМ-БАН определена за член на научно жури, съгласно Заповед № РД-15-4/14.01.2021 г. на Директора на ИЕМПАМ – БАН

На **дисертационен труд** на тема: „Проучвания in vitro върху цитосъвместимостта и остеоиндуктивността на нови материали за костни заместители” за защита и придобиване на образователната и научна степен „Доктор”, в Област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление 4.3. Биологически науки, Научна специалност Морфология (шифър: 01.06.26)

Автор на дисертационния труд: Бойка Димитрова Андонова-Лилова, задочен докторант в секция „Патология”, ИЕМПАМ – БАН

Научен ръководител: проф. Радостина Ивайлова Александрова, доктор

Настоящата рецензия е изготвена съгласно Закона за развитие на академичния състав (ЗРАС) в РБ, Правилника за неговото приложение (ППЗРАС), Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в БАН и Изисквания за придобиване на образователната и научна степен „Доктор” на ИЕМПАМ при БАН.

Материали по процедурата:

Представените материали на хартиен и електронен носител са прецизно структурирани в съответствие с изискванията на ЗРАСРБ и правилника за неговото приложение, на правилника за развитие на академичния състав на БАН и ИЕМПАМ и включват задължителните за процедурата материали.

Дисертационният труд е одобрен и насочен за защита на разширено заседание на секция „Патология“, ИЕМПАМ-БАН, проведено на 15.12.2020г със заповед № РД-09-69 от 09.12.2020г на Директора на Института.

Характеристика на дисертационния труд.

Представеният дисертационен труд обхваща 238 нестандартни страници и съдържа обичайните раздели: Заглавна страница, Съдържание; Използвани

съкращения – 1 стр.; Въведение - 3 стр.; Литературен обзор - 51 стр.; Цел и Задачи - 1 стр.; Материали - 12 стр. и методи - 25 стр.; Резултати - 106 стр.; Обсъждане - 19 стр.; Изводи - 1 стр.; Приноси - 1 стр.; Литература; Списък с публикации по дисертацията. Библиографската справка е представена от 153 източника, от които 10 на кирилица и останалите на латиница.

Дисертационният труд на докторант Бойка Андонова-Лилова е адресиран към проблем от съществено значение за опазване на човешкото здраве костно-ставни заболявания и ремоделиране на костта при големи костни загуби. Дисертационният труд е свързан с модерните биомедицински технологии за разработване и характеризиране на нови материали за костни импланти и нови подходи за регенериране на костта, което го отличава не само с висока актуалност, но и с висока иновативна перспектива.

Литературният обзор е целенасочено развит, отличава се с ясен и стегнат научен стил. Представя подробна и актуална информация за костно-ставните заболявания (дегенеративни и възпалителни, фрактури, остеопороза и други мускулно-скелетни патологии), които със застаряване на населението придобиват все по значимо социално-икономическо значение и необходимостта от разработване на нови материали и подходи за възстановяване на нарушените функции на опорно-двигателния апарат. В тематично обособени раздели са представени данни свързани с: класификация на костите (видове, състав, структура и свойства на костта), тъкани и клетки изграждащи костите и хрущялите; патологични изменения на кости и стави; процеси свързани с регенерация на костите при счупване и възпалителни заболявания, при зарастване; смущения в развитието на костите (вродени заболявания спина бифида и остеогенезис имперфекта), остеопороза. Подробно са представени техники за възстановяване на костни увреждания чрез методите на авто- и алоприсадки или чрез прилагане на костни заместители от съвременни биоматериали включващи –биокерамики (инертни материали), биоактивни стъкла и биоматериали от трето поколение насочени към стимулиране на регенеративните процеси на костите. Вниманието е насочено към създаване на 3Dматрици (скафолди) за костно тъканно инженерство (моделиране).

Целта е дефинирана коректно и за изпълнението и са поставени 3 конкретни задачи.

Оценка на използваните материали и методи. При изпълнение на експерименталната част са приложени интердисциплинарни класически и иновативни техники и подходи, научно-обосновани, които без съмнение позволяват получаването на коректни научни резултати. Дисертантката умело съчетава използването на огромно количество експериментален материал. От

една страна това са 21 проби от 3 групи калциево фосфатни материали, немодифицирани и модифицирани с метални (Zn^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+}) йони (8 проби на прахови образци; 6 проби на композитни материали и 7 проби на цименти). От друга страна – са различните клетъчни таргети включващи постоянни човешки и животински туморни и нетуморни клетъчни линии, първични култури от костен мозък на мишки и плъх, от костни експланти на мишка, първични култури от човешки мезенхимни стволови клетки изолирани от адипозна тъкан. И от трета страна – са приложените методи (индиректни и директни) - клетъчно култивиране, цитотоксични тестове с различни прицелни механизми на действие, методи за изследване на клетъчна морфология/патология и адхезивна способност, сканираща електронна микроскопия (SEM), флоуцитометрия, проучвания върху генотоксичния ефект на веществата чрез “Comet assay”, стимулиране на остеогенна диференциация, статистически методи. Варирани са времето на експозиция за всяка проба с цел получаване на конкретна модифицирана среда и различно процентно съдържание в опитите, варирани са контактните взаимодействия клетка-проба, времето на взаимодействие проба-клетки в краткосрочни и дългосрочни експерименти и т.н, което предполага огромен брой експериментални варианти, като винаги са използвани подходящи контроли. Кулминация са изследванията от най- съвременните измерения на тъканното инженерство, съчетаващи изолиране и характеризиране на човешки мезенхимни стволови клетки от адипозна тъкан, изключително ценни за костнотъканното моделиране. В раздела „Материали и методи“ използваните техники са старателно и подробно описани, което позволява тяхната възпроизводимост от други изследователи.

Най-голям дял в дисертационния труд заема раздел „*Резултати*“, включващ собствени данни на автора, обособени в подраздели в последователност следваща планираните задачи.

Проучено е влиянието на широк набор от новосинтезирани прахови калциево-фосфатни материали (КФМ) от Група 1 (модифицирани с Zn, Mg или Sr катийони) върху преживяемостта и пролиферативната активност на постоянни човешки и миши нетуморни клетъчни линии, първични култури от костен мозък на мишка и плъх, от костни експланти на мишка и перманентни човешки туморни клетъчни линии и др. Изследван е генотоксичния ефект на КФМ от Група 1. Изследвана е цитосъвместимостта на композитни материали от гр.2 при човешки (Lep-3) и миши (BALB /c 3T3) ембрионални фибробласти и първични култури от костен мозък на мишки и плъхове. Характеризирана е био/цитосъвместимостта и остеоиндуктивния потенциал на материали от Група 3 – Цименти (Аморфни калциеви фосфати) при

различните моделни системи. Специално внимание заслужават изследванията при които са изолирани, фенотипизирани (чрез флоуцитометричен анализ) човешки мезенхимни стволови клетки от адипозна тъкан и последващото им включване в директни и индиректни експерименти за определяне на цитосъвместимостта и остеоиндуктивността на материали от група 3 (цименти на основата на аморфен калциев фосфат АСР-ТА и АСР-ТА-Mg). Идентифицирани са калциево-фосфатни материали с остеоиндуктивна активност и потенциал за костни заместители.

Извършените изследвания са впечатляващи по обем и методологичен обхват (получени са на базата на широк кръг от клетъчни модели и методи с различни клетъчни мишени и механизми на действие) като са използвани необходимите контроли и статистически методи. Приложен е огромен доказателствен материал от 103 фигури, съставени от многокомпонентни графики и/или снимки с високо качество и 4 таблици, което гарантира надеждността на получените резултати. Всичко това позволява да се даде положителна и много висока оценка на проведените изследвания и получените резултати.

Резултатите са детайлно анализирани в раздел „Обсъждане“ в съответствие с научната литература, целта и задачите на дисертацията. Дискусията е написана на много добър научен език и стил, и е изключително убедителна. Личи много добрата теоритична подготовка на докторантката и уменията и да анализира научни данни.

На базата на получените резултати правилно са **дефинирани 4 основни изводи**, които приемам. Те отразяват най-съществените постижения и закономерности по отношение наблюдаваните ефекти (цитосъвместимост и остеоиндуктивност) на изследваните калциево фосфатни материали и вероятните механизми на действие в моделни експериментални таргетни системи.

Изведени са **6 приноса** – 3 оригинални, 2 потвърдителни и 1 приложен. Като най-съществени намирам следните приноси:

1. За първи път са получени данни за цитосъвместимостта на 21 нови материали за костни заместители, отнасящи се към три групи с различни състав/структура, химични и физико-химични свойства, като чрез директни експерименти и SEM анализ е доказано, че някои от тях (Материали от Група 3) позволяват прилепване и пролиферация на клетки на повърхността и във вътрешността им.

2. Циментът АСР-ТА (аморфен калциев фосфат, модифициран с винена киселина) е разпознат като нов цитосъвместим и остеоиндуктивен материал, способен да стимулира пролиферацията и остеогенната диференциация на

човешки мезенхимни стволови клетки (МСК), изолирани от мастна (адипозна) тъкан.

3. Установени са зависимости между състав-структура на материалите и биологичната им активност, което ще улесни синтезирането на нови костни заместители с подобрени свойства

4. Оптимизиран и въведен в лабораторната практика е комплексен подход за оценка на цитосъвместимостта и остеоиндуктивността на калциево-форфатни материали за костни заместители, включващ директни и индиректни експерименти, изпълнени чрез методи с различни мишени (клетъчни молекули и органели) и механизми на действие, както и широк набор от клетъчни моделни системи (човешки и животински, първични култури и постоянни клетъчни линии; туморни и нетуморни клетки; крайно диференцирани и стволови/прогениторни клетки).

Публикации във връзка с дисертационния труд: По темата на дисертацията са отпечатани 14 научни публикации, 1 от които в списание с ISI импакт фактор, 7 в международно списание без ISI импакт фактор, 6 публикации на доклад в пълен текст в материали от чуждестранно (4) или българско (2) научно мероприятие, което още веднъж доказва високото качество на дисертационния труд. Личният принос на докторантката в разработването на дисертационния труд е несъмнен. Научните публикации са в съавторство, в шест от тях - тя е първи автор. Научни резултати по темата на дисертацията са докладвани на национални и международни научни форуми, за две от които има присъдени 2 първи награди. Докторантката участва общо в 7 научни проекта.

Експерименталната работа по дисертационния труд е извършена основно в ИЕМПАМ-БАН и отчасти в ИМБ, ИБИР и ИОНХ при БАН с финансовата подкрепа на научно изследователски проекти - 3 към ФНИ при МОН, 2 по Оперативна програма „Развитие на човешки ресурси“, 1 по COST Акция и 1 двустранен с Литовската Академия на Науките.

Оценка на автореферата. Авторефератът е много добре оформен и отразява в достатъчен обем и последователност основните положения в дисертационния труд.

Биографични данни. Бойка Димитрова Андонова-Лилова е родена през 1982г. в гр. София. През 2005г. завършва Медицинския колеж „Йорданка Филаретова“ към МУ София като „Специалист по здравни грижи - медицинска сестра“. Дипломира се в СУ „Климент Охридски“ през 2009г. като бакалавър по „Екология и опазване на околната среда“ и през 2011г. като „Магистър по Биотехнологи, със специалност „Клетъчно и генно инженерство“. Професионалният път на Бойка Андонова-Лилова започва

като лаборант в ИЕМПАМ-БАН през февруари 2011г. От октомври 2011г. е асистент, а от януари 2014г. е зачислена като задочен докторант след успешно издържан конкурсен изпит. Бойка Андонова-Лилова е изпълнила успешно образователната и научната програма, и значително е надвишила количествените критерии като е събрала 1762 при изискван минимум от 250 кредита. Притежава отлична езикова подготовка и компютърни умения.

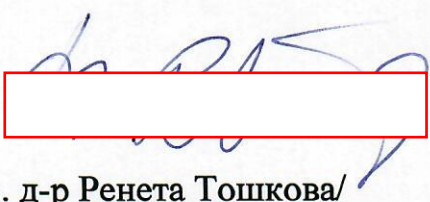
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд е целенасочено, обстойно и системно научно изследване. По актуалност на разработваната тематика, подходящо подбрани и приложени разнообразни методи, прецизност и качество на проведените изследвания, оригиналност и значимост на научно-приложните и научни приноси, представеният за рецензиране дисертационен труд отговаря напълно на изискванията на Закона за развитието на академичния състав в РБ и Правилника за неговото приложение, както и на вътрешните правилници на БАН и на ИЕМПАМ-БАН, за присъждане на образователната и научна степен „Доктор”. Докторантката Бойка Андонова-Лилова е придобила теоритични знания и професионални умения, надградила е методичната си подготовка. Утвърдила се е като способен и перспективен млад учен.

Имайки предвид, гореизложеното давам висока оценка на представения дисертационен труд и убедено препоръчвам на членовете на уважаемото Научно жури да гласуват с „Да” и да присъдят образователната и научна степен „Доктор” на асистент Бойка Димитрова Андонова-Лилова в Професионално направление 4.3. "Биологически науки", по научна специалност "Морфология" 01.06.26.

4 март 2021г., София

С уважение:


/проф. д-р Ренета Тошкова/